

(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

(11) N° de publication : 2.159.369
(A n'utiliser que pour
le classement et les
commandes de reproduction).
(21) N° d'enregistrement national : 72.39533
(A utiliser pour les paiements d'annuités,
les demandes de copies officielles et toutes
autres correspondances avec l'I.N.P.I.)

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

1^{re} PUBLICATION

- (22) Date de dépôt 8 novembre 1972, à 15 h 36 mn.
(41) Date de la mise à la disposition du
public de la demande..... B.O.P.I. — «Listes» n. 25 du 22-6-1973.
- (51) Classification internationale (Int. Cl.) A 61 k 27/00/C 07 d 51/00.
- (71) Déposant : Société dite : JANSSEN PHARMACEUTICA N.V., résidant en Belgique.
- (73) Titulaire : *Idem* (71)
- (74) Mandataire : Cabinet Z. Weinstein.
- (54) Inhibition de l'activité du complément.
- (72) Invention de :
- (33) (32) (31) Priorité conventionnelle : *Demande de brevet déposée en Grande-Bretagne le
9 novembre 1971, n. 52.027/1971 et demande de brevet déposée aux États-Unis
d'Amérique le 17 octobre 1972, n. 298.211 au nom de Josephus Brugmans.*


La présente invention concerne un procédé d'inhibition de l'activité du complément dans les liquides du corps, cette inhibition étant utile pour favoriser ou empêcher celles des réactions pathologiques où le complément joue un rôle, tels
5 que les processus inflammatoires et les dommages des membranes des cellules induits par les complexes antigène-anticorps

L'invention concerne en outre le médicament utilisé à cet effet.

Le mot "complément" désigne un complexe de protéines se trouvant dans les liquides du corps qui participent aux réactions immunochimiques et immunopathologiques. En ce qui concerne le sang humain, le complément consiste en plusieurs (environ 11) protéines différentes de sérum sanguin représentant environ 10% en poids de la fraction globulines de sérum humain. En présence de
15 complexes anticorps-antigène, les protéines du complément sont impliquées dans une série de réactions qui peuvent entraîner des altérations irréversibles des membranes si elles se produisent au voisinage de membranes biologiques. Ainsi, bien que le complément constitue une partie des moyens de défense du corps
20 vis-à-vis de l'infection, il entraîne aussi une inflammation et des altérations de tissus au cours du processus immunopathologique. La nature de certaines des protéines du complément ainsi que des suggestions concernant le mode de liaison du complément aux membranes biologiques et que la manière selon laquelle le complément
25 produit des altérations de ces membranes sont discutées dans l'article de Hans J. Muller - Eberhard dans "Annual Review of Biochemistry, 38, 389 (1969).

La demanderesse a maintenant découvert que certaines N-arallyl-N-aralcoylpipérazines et leurs sels d'addition d'acide
30 thérapeutiquement actifs inter-réagissaient avec la suite de réactions du complément, de telle sorte que l'activité du complément était inhibée dans les fluides du corps et que celles des réactions pathologiques où le complément joue un rôle étaient favorisées ou empêchées.

35 En conséquence, la présente invention concerne un procédé d'inhibition de l'activité du complément des fluides du corps, en particulier de l'activité du complément du sérum sanguin, ce



72 39533

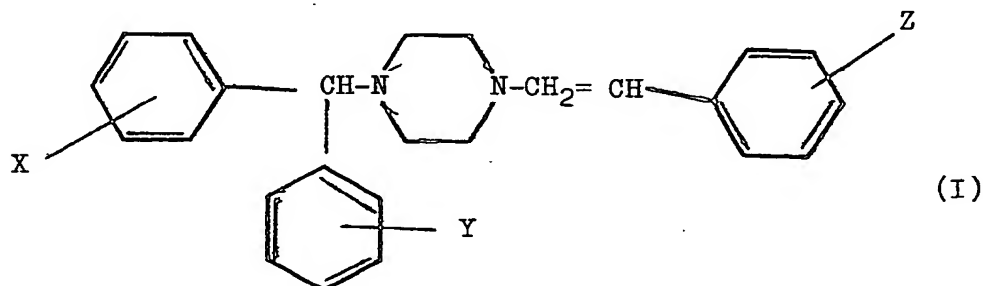
2

2159369

procédé consistant à soumettre ledit complément du fluide du corps à l'action d'une quantité, efficace pour l'inhibition du complément, d'une substance choisie parmi les N-arallyl-N-aralcoylpipérazines de formule :

5

10



et leurs sels d'addition d'acide non toxiques et pharmacologiquement actifs, où :

X est choisi dans le groupe formé par l'hydrogène, les halogènes (de préférence le chlore ou le fluor), les radicaux alcoyle inférieurs (ayant de préférence 1 à 3 atomes de carbone) et les radicaux alcoxy inférieurs (de préférence le radical méthoxy);

Y est choisi dans le groupe formé par l'hydrogène, les halogènes (de préférence le chlore ou le fluor) et les radicaux alcoxy inférieurs (de préférence le radical méthoxy); et

Z est choisi dans le groupe formé par l'hydrogène, les halogènes (de préférence le chlore ou le fluor), les radicaux alcoyle inférieurs (ayant de préférence 1 à 3 atomes de carbone) et les radicaux alcoxy inférieurs (de préférence le radical méthoxy).

Dans la présente description, les expressions "alcoyle inférieur" et "alcoxy inférieur" se rapportent à une chaîne droite ou ramifiée ayant 1 à 5 atomes de carbone. Le mot "halogène" couvre le fluor, le brome, le chlore et l'iode.

Les réactions pathologiques où le complément joue un rôle et qui peuvent par conséquent être empêchées par le procédé de la présente invention comprennent certaines maladies par auto-immunisation (maladies auto-immunes), telles que l'anémie hémolytique, les infections chroniques telles que l'hépatite, les états inflammatoires

tels que la polyarthrite chronique évolutive, et les états allergiques. On appréciera qu'il peut être possible de soulager les symptômes de tels états ou maladies en mettant en oeuvre le procédé de l'invention, quoiqu'il soit vraisemblable que ces symptômes réapparaissent lorsque l'administration du médicament cesse.

Les composés de formule (I) en soi ont été décrits dans, soit peuvent être, préparés selon les processus de synthèse décrits dans le brevet américain 2882271 et le brevet belge N° 735452.

10 En général, ces composés peuvent être aisément préparés par condensation d'une N-benzhyldrylpipérazine appropriée avec un halogénure de cinnamyle approprié ou bien par condensation d'un halogénure de benzhyldryle approprié avec une N-cinnamylpipérazine appropriée.

15 Les composés de formule (I) peuvent être utilisés sous la forme de leurs sels d'addition d'acide thérapeutiquement actifs, par exemple les sels formés par réaction avec un acide inorganique approprié choisi parmi les acides chlorhydrique, bromhydrique, iodhydrique, sulfurique, phosphorique et analogues, ou avec
20 un acide organique approprié choisi parmi les acides acétique, propionique, glycolique, lactique, oxalique, malonique, tartrique, citrique, sulfonique, ascorbique, et analogues.

Les composés préférés dans le cadre de la présente invention sont d'une part celui dans lequel X,Y et Z représentent des atomes
25 d'hydrogène (connu d'une manière générique sous le nom de "cinnarizine") et d'autre part par celui dans lequel X et Y sont des atomes de fluor et Z l'hydrogène (connu d'une manière générique sous le nom de flunarizine"), ainsi que leurs sels d'addition d'acide thérapeutiquement actifs.

30 Pour l'utilisation thérapeutique, les composés de formule (I) et leurs sels peuvent être administrés sous la forme de compositions pharmaceutiques classiques. De tels compositions peuvent être appropriées pour l'administration orale ou parentérale. L'ingrédient actif peut être associé sous forme
35 de mélange intime, avec un véhicule ou support pharmaceutiquement acceptable, lequel peut prendre une grande diversité de formes en fonction du type de formulation désirée pour l'administration



c'est-à-dire orale ou parentérale.. Ces compositions se présentent de préférence sous la forme de doses unitaires à prendre par voie orale, par exemple sous la forme de comprimés ou de capsules. Pour la préparation de telles compositions, on peut utiliser n'importe lequel des agents pharmaceutiques habituels tels que les amidons, les sucres, le kaolin, les lubrifiants, les liants et les agents de désagrégation. La composition peut en outre contenir des agents de conservation, des anti-oxydants, des substances conférant certaines saveurs, des agents adoucissants ou édulcorants et/ou des substances colorantes.

Il est particulièrement avantageux de formuler les compositions pharmaceutiques précitées en doses unitaires pour la facilité de l'administration et l'uniformité du dosage. L'expression "dose unitaire" utilisée ici concerne une unité physiquement déterminée contenant une quantité prédéterminée de substance active correspondant à la production de l'effet thérapeutique souhaité, en association avec le véhicule pharmaceutique requis. Comme exemples de doses unitaires, on peut citer les comprimés, les capsules, les sachets de poudre, les cuillerées à café, etc.... et les multiples convenablement choisis de ceux-ci. La quantité d'ingrédients actifs par dose unitaire va d'environ 5 mg à environ 500 mg et de préférence d'environ 10 mg à environ 100 mg.

La dose efficace, pour l'homme, de cinnarizine est comprise entre environ 75 mg et 500 mg par jour, tandis que la dose efficace correspondante de flunarizine est comprise entre environ 5 mg et 60 mg par jour.

Les exemples ci-après sont donnés, à titre non limitatif, pour illustrer la présente invention.

EXEMPLE I

On prépare, à partir de la formulation ci-après, 10000 capsules en gélatine dure, contenant chacune, comme constituant actif, 25 mg de chlorhydrate de flunarizine :

	<u>Grammes</u>
Constituant actif.....	250
Lactose.....	750
Amidon.....	250
Talc.....	250

Grammes

Stéarate de calcium..... 10

Le mélange uniforme de différents constituants précités sert à remplir les capsules en deux pièces de gélatine dure.

5

EXEMPLE II

On prépare 5000 comprimés, contenant chacun 10 mg de chlorhydrate de cinnarizine (constituant actif), à partir de la formulation suivante :

Grammes

10	Constituant actif.....	50
	Amidon.....	72,5
	Phosphate dicalcique.....	500
	Stéarate de calcium.....	2,5

15 Les ingrédients, sous forme de poudre fine, sont bien mélangés et granulés au moyen d'une pâte à 10% d'amidon. Le produit granulé est séché et comprimé pour donner les comprimés recherchés, l'amidon jouant le rôle d'agent de désaggrégation et le stéarate de calcium le rôle de lubrifiant.

EXEMPLE III

20 Cet exemple démontre l'activité de la cinnarizine et de la flunarizine contre le complément, lorsque cette activité est étudiée in vitro sur le complément du cobaye. La méthode utilisée dans cette étude résulte d'une modification de celle décrite par E.A. Kabat et M.M. Mayer dans "Experimental
25 Immunochemistry", page 152. On ajoute à 0,5 ml de globules rouges du mouton, préalablement lavés, dans un tampon "Véronal" (dénomination commerciale)-gélatine et dilués pour obtenir une suspension à 4%, 0,1 ml d'un antisérum vis-à-vis des érythrocytes (Nordic Pharmaceuticals) dilué à 1/125 et 0,4 ml
30 du tampon précité. Les globules rouges sont sensibilisés par incubation pendant 15 minutes à 37°C. Après sensibilisation, le médicament ou solvant est incubé à nouveau à 37°C. On réalise l'hémolyse des globules rouges du mouton au moyen de fractions aliquotes de 5 microlitres de sérum de cobaye frais (non dilué
35 ou à demi-dilué), pendant une durée déterminée, et l'on arrête ensuite la réaction en ajoutant 1 ml d'une solution saline froide à base de citrate. Les globules rouges sont soumis à une centrifugation dans une microcentrifugeuse et le degré d'hémolyse



est déterminé par l'extinction de la substance surnageant à 541 nm dans un microcolorimètre de Beckman.

Un placebo et un échantillon témoin hémolysé à 100% (0,5 ml de globules rouges du mouton + 1 ml d'eau distillée) sont incubés en même temps que les autres échantillons. Les courbes des figures 1 et 2 représentent le degré d'hémolyse (en ordonnées, en %) en fonction du temps (en abscisses, en minutes). On effectue une seconde série d'expériences en utilisant une solution de cinnarizine dans le diméthylformaldéhyde (DMF), afin d'éviter l'effet du solvant de la cinnarizine (acide tartrique 0,1 M) utilisé dans la première série d'expériences. Les résultats détaillés sont donnés dans les tableaux 1 et 2 ci-après :

TABLEAU 1

<u>Inhibition du complément in vitro par la cinnarizine</u>				
Concentration finale en		% d'hémolyse		
cinnarizine-base				
(R 1575)/DMF				
		: 5 mn	: 10 mn	: 15 mn
20	Solvant (DMF)	: 72,8	: 75,5	: 80,0
	5 x 10 ⁻⁵ M (R 1575/DMF)	: 53,0	: 63,5	: 77,0
		: :	: :	: :
25	Solvant (DMF)	: 51,2	: 59,9	: 68,7
	1 x 10 ⁻⁴ M (R 1575/DMF)	: 42,8	: 55,9	: 63,5
		: :	: :	: :
25	Solvant (DMF)	: 51,0	: 48,9	: 76,9
	2 x 10 ⁻⁴ M (R 1575/DMF)	: 45,0	: 46,3	: 62,8
		: :	: :	: :

TABLEAU 2

<u>Inhibition du complément in vitro par la flunarizine</u>				
Concentration finale en		:	% d'hémolyse	
flunarizine		:		
5	(R 14 950)	:		
		:	5 mn	: 10 mn : 15 mn
	Solvant (DMF)	:	51,5	: 53,4 : 57,9
	5×10^{-5} M (R 14950/DMF)	:	32,4	: 42,3 : 47,6
10		:		
	Solvant (DMF)	:	38,4	: 46,0 : 47,0
	1×10^{-4} M (R 14950/DMF)	:	22,4	: 39,8 : 45,6
		:		
	Solvant (DMF)	:	45,3	: 42,2 : 46,2
	2×10^{-4} M (R 14950/DMF)	:	22,1	: 27,3 : 34,6
15		:		

Les résultats obtenus montrent que tant la cinnarizine que la flunarizine ont une activité anti-complémentaire sur le sérum du cobaye.

EXEMPLE IV

20 Cet exemple montre l'activité d'inhibition du complément présentée par les composés (I) de la présente invention in vitro dans le cas du complément du sérum du rat. La méthode utilisée pour déterminer l'activité hémolytique (CH'_{50}) est une micro-modification de celle décrite par Kabat et Mayer dans "Experimental Immuno-
25 chemistry", 2ème édition, page 133 (1961).

A 50 ml d'une solution à 4% de globules rouges de mouton dans le tampon de Mayer exempt de gélatine (VB^{++}), on ajoute 0,25 ml d'un anti-sérum contre les érythrocytes de mouton (Nordic Pharmaceutical). Après agitation vigoureuse, on incube la suspension pendant
30 15 minutes à 37°C pour sensibiliser les érythrocytes. A 0,5 ml des érythrocytes ainsi sensibilisés, on ajoute respectivement 0,005 ml d'une solution du médicament à essayer dans le diméthylformaldéhyde et une quantité croissante de sérum de rat dilué à 1/100 dans le tampon VB^{++} . On mesure un CH'_{50} au moyen de cinq dilutions
35 du complément (1/1000, 1/500, 1/330, 1/250 et 1/200). Tous les volumes sont amenés à 1 ml chacun avec le tampon VB^{++} . La valeur CH'_{50} du témoin est déterminée en présence de 0,005 ml de DMF.

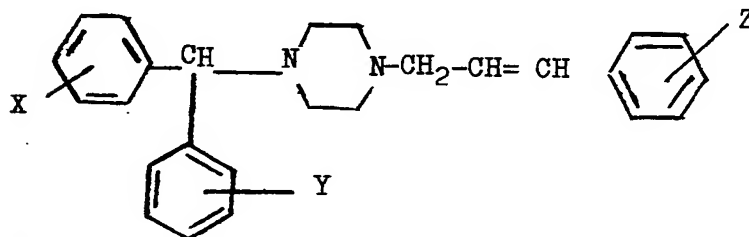
72 39533

8

2159369

- Un placebo constitué par 0,5 ml de la suspension précitée de globules rouges et 0,5 ml de tampon VB⁺⁺, ainsi qu'un témoin hémolysé à 100% constitué par une suspension de 0,5 ml de globules rouges hémolysés au moyen de 1 ml d'eau, sont traités
- 5 ensemble en même temps que les autres échantillons. Ils sont incubés pendant 30 minutes à 37°C, refroidis dans la glace fondante, centrifugés et la substance surnageante est repéré à 541 mm dans le microcolorimètre de Beckman. On calcule ensuite la valeur de CH'₅₀ au moyen de l'équation
- 10 de Van Krogh (donnée dans la référence citée plus haut), puis le pourcentage ou degré d'inhibition à l'aide de la formule :

$$\% \text{ d'inhibition} = 100 - \frac{\text{CH}'_{50} \text{ médicament}}{\text{CH}'_{50} \text{ DMF}} \times 100$$



(I)

	<u>X</u>	<u>Y</u>	<u>Z</u>	: % d'in- hibition : $10^{-4}M$: % d'inhibition : $5 \times 10^{-5}M$
5					
10	H	H	H	12,0	31,0
	H	p-Cl	H	28	58
	H	p-Cl	p-CH(CH ₃) ₂	20	0
	H	p-Cl	m-CH ₃	25	27
15	H	p-Cl	p-C(CH ₃) ₃	26	21
	p-CH(CH ₃) ₂	H	p-C(CH ₃) ₃	13	14
	p-CH ₃	p-Cl	p-C(CH ₃) ₃	26	4
	p-CH ₃	H	p-C(CH ₃) ₃	13	25
	p-OCH ₃	p-Cl	p-C(CH ₃) ₃	16	11
20	p-OCH ₃	H	p-C(CH ₃) ₃	32	-
	p-CH(CH ₃) ₂	p-Cl	p-C(CH ₃) ₃	0	15
	p-Cl	H	p-OCH ₃	74	25
	p-F	p-Cl	H	31	35
	p-Cl	p-Cl	H	75	34
25	p-OCH ₃	p-OCH ₃	H	13	18
	p-OCH ₃	p-Cl	H	20	39
	H	H	p-F	46	34
	p-F	H	H	21	57
	p-F	H	p-F	29	38
30	p-F	p-F	H	63	51
	p-F	p-F	p-F	25	45
	p-Cl	H	p-Cl	55	40
	p-Cl	p-Cl	p-Cl	12	20
35					

Les résultats obtenus montrent que les composés de formule (I) possèdent une bonne activité d'inhibition du complément dans le sérum du rat.

72 39533

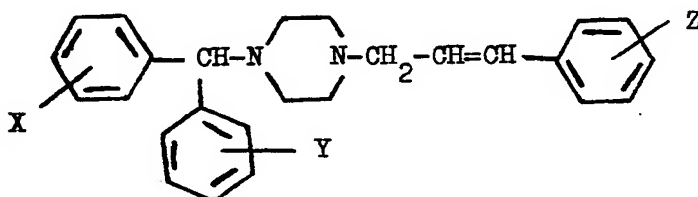
10

2159369

Bien entendu, la présente invention n'est nullement limitée aux modes d'exécution décrits qui n'ont été donnés qu'à titre d'exemple. En particulier, elle comprend tous les moyens constituant des équivalents techniques des moyens décrits
5 ainsi que leurs combinaisons, si celles-ci sont exécutées suivant son esprit et mises en oeuvre dans le cadre des revendications qui suivent.

R E V E N D I C A T I O N S

1.- Nouveau médicament pour inhiber l'activité du complément des liquides du corps, caractérisé en ce qu'il est constitué par ou en ce qu'il contient au moins une N-arallyl-N-aralcoylpipérazine de formule :



ou par un de ses sels d'addition d'acide pharmacologiquement actif, où :

15 X est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes, les radicaux alcoyle inférieurs et les radicaux alcoxy inférieurs ;

Y est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes, et les radicaux alcoxy inférieurs ; et

20 Z est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes, les radicaux alcoyle inférieurs et les radicaux alcoxy inférieurs.

2.- Médicament selon la revendication 1, caractérisé en ce que :

25 X est choisi parmi l'hydrogène, le chlore, le fluor, les radicaux alcoyle de 1 à 3 atomes de carbone et le radical méthoxy ;

Y est choisi dans le groupe formé par l'hydrogène, le chlore, le fluor, et le radical méthoxy ; et

30 Z est choisi parmi l'hydrogène, le chlore, le fluor, les radicaux alcoyle de 1 à 3 atomes de carbone et le radical méthoxy.

3.- Médicament selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il est constitué par ou en ce qu'il contient la 1-cinnamyl-4-diphénylméthylpipérazine ou l'un de ses sels

d'addition d'acide pharmaceutiquement actif '.

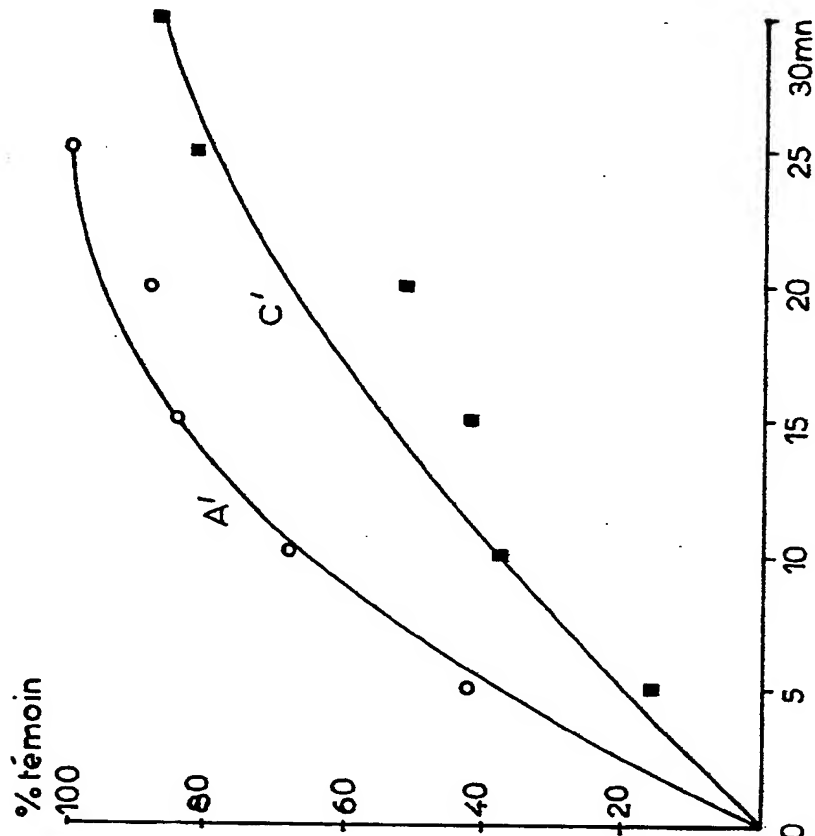
- 4.- Médicament selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il est constitué par ou en ce qu'il contient la 1-cinnamyl-4-(4,4'-difluorobenzhydryl)pipérazine ou
- 5 l'un de ses sels d'addition d'acide pharmaceutiquement actifs.

- 5.- Procédé de traitement thérapeutique, par inhibition de l'activité du complément des fluides du corps, notamment du sérum sanguin , caractérisé en ce qu'il consiste
- 10 à soumettre ledit complément à l'action d'une quantité efficace pour l'inhibition dudit complément, d'un médicament selon l'une quelconque des revendications 1 à 4.

Fig. 2.

Source de complément
sérum de cobaye dilué à $1/2$

A'(témoin): $+5\mu\text{l}$ de H_2O
C': $+5\mu\text{l}$ de flunarizine (10^{-2}M) dans H_2O
concentration finale ($5 \times 10^{-5}\text{M}$)

**Fig. 1.**

Source de complément
sérum de cobaye non dilué

A (témoin): $+5\mu\text{l}$ de H_2O
B (solvant): $+5\mu\text{l}$ d'acide tartrique ($0,1\text{M}$)
C: $+5\mu\text{l}$ de cinnarizine base (10^{-2}M) dans acide tartrique ($0,1\text{M}$)
concentration finale ($5 \times 10^{-5}\text{M}$)

